

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober 2017 sampai dengan Desember 2017, bertempat di Laboratorium Biomedik, Kampus II Universitas Muhammadiyah Malang.

#### **3.2. Materi dan Alat**

##### **3.2.1. Materi Penelitian**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Isolat Bakteri *Lignochloritic* ( Prihartini, 2007 ).
2. Media cair terdiri dari mineral mix dan ekstrak jerami ( Prihartini, 2007).
3. Aquades.

##### **3.2.2. Alat Penelitian**

Peralatan yang digunakan untuk melakukan uji pertumbuhan, produksi dan aktifitas enzim adalah spektrofotometer UV, timbangan analitik, laminar air flow, dan peralatan untuk menganalisis jumlah sel mikroba dan produksi enzim.

#### **3.3 Batasan Variabel**

##### **3.3.1. Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu fermentasi.

### **3.3.2. Variabel terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah karakteristik pertumbuhan dan produksi enzim. Pengambilan data dilakukan setiap hari mulai hari 1 sampai hari 15. Materi kultur bakteri sesuai dengan rekomendasi Prihartini ( 2007 ).

### **3.4. Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Pengujian karakteristik pertumbuhan dan produksi enzim yang dihasilkan kultur *Lignochloritic*.

### **3.5. Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1. Prosedur pengujian pertumbuhan sel.**

Pembuatan media kultur dengan komposisi sesuai rekomendasi Prihartini ( 2007 ) dicampur dan disterilisasi. Sebelum pembuatan media kultur langkah yang dilakukan yaitu sterilisasi peralatan yang digunakan untuk proses pertumbuhan bakteri. Peralatan yang digunakan meliputi botol beserta tutup botol primer dan tutup botol sekunder untuk proses pertumbuhan bakteri. Sterilisasi dilakukan dengan cara menyemprotkan larutan alkohol pada alat serta dilakukan proses penyinaran UV didalam laminar air flow. Proses sterilisasi bertujuan untuk membunuh bakteri lain supaya bakteri *Licnochloritic* tidak terkontaminasi bakteri lain. Pembuatan kultur bakteri dilakukan didalam laminar air flow, supaya media dan kultur tidak terkontaminasi mikroorganisme yang terdapat pada udara. Isolate bakteri dimasukkan kedalam botol fermentor sebanyak 15 buah dengan masing-masing botol berisi campuran isolat bakteri sebanyak 10 ml dan media sebanyak 200 ml. Proses fermentasi dilakukan selama 15 hari ( Prihartini,2007 ).

Selanjutnya isolat bakteri *Lignochloritic* pada media kultur diinkubasi pada suhu kamar menggunakan penggojok dengan kecepatan 125 rpm selama 14 hari. Jumlah sel isolat diamati setiap 24 jam sekali selama 14 hari dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm ( Prihartini,2007 ). Selanjutnya menghitung TPC bakteri *Lignochloritic* menggunakan media agar sebagai media pertumbuhannya. Sebelum dilakukan penanaman bakteri terlebih dahulu yang dilakukan adalah pengenceran dengan kultur bakteri senyak 1 ml dan aquades 100 ml. Setelah dilakukan pengenceran, kemudian dilakukan penanaman pada media agar dan diinkubasi selama 24 jam selama 15 hari sampai  $10^6$ , jumlah koloni masing-masing cawan diamati dan dihitung.

### **3.5.2. Prosedur Pengujian Produksi Enzim**

Produksi enzim diambil sampel dan diukur protein terlarut dengan metode Laury ( 1970 ) setiap 24 jam selama 15 hari. Enzim kasar diperoleh dari kultur 10  $\mu$ l isolat pada 20 ml media cair dan diinkubasikan pada suhu 30° C pada penggojok dengan kecepatan 125 rpm selama 24 jam. Pada akhir inkubasi kultur disentrifuge dengan kecepatan 15.000 rpm pada suhu 4 °C selama 15 menit Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak enzim kasar ( Kawakami, 1980 ). Kemudian 10  $\mu$ l supernatant diinokulasikan kedalam 500  $\mu$ l protein standart dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 10 menit dan diamati setiap 24 jam sekali selama 15 hari dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 540 nm untuk mengukur produksi enzim mg/ml.

### **3.6. Perlakuan dan Ulangan**

Perlakuan dan ulangan pada penelitian kali ini tidak ada hanya berdasarkan variabel bebas dan variabel terikat.

### **3.7. Metode Analisis Data**

Metode analisis data dalam penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif yaitu dengan mendeskripsikan keadaan yang telah diukur kemudian diolah sesuai dengan fungsinya. Hasil pengolahan tersebut kemudian dipaparkan atau dianalisis agar dapat memberikan gambaran secara ringkas dan jelas.

